

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—116015

⑬ Int. Cl.³
A 61 K 31/47
// C 07 D 491/22

識別記号
A D U

庁内整理番号
6675—4C
8115—4C

⑭ 公開 昭和57年(1982)7月19日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑮ 抗腫瘍剤

⑯ 特 願 昭56—1150

⑰ 出 願 昭56(1981)1月9日

⑱ 発 明 者 宮坂貞
横浜市緑区青葉台1丁目27番11号

⑲ 発 明 者 務台方彦
東大和市清水4丁目988番地

⑳ 発 明 者 横倉輝男
東京都世田谷区祖師谷1丁目36番8号

㉑ 発 明 者 沢田誠吾

東京都目黒区緑が丘3丁目6番13号

㉒ 発 明 者 野方健一郎

三鷹市牟礼3丁目2番5号

㉓ 発 明 者 古田富雄

国立市北2丁目15番6号さつき荘

㉔ 出 願 人 株式会社ヤクルト本社

東京都港区東新橋1丁目1番19号

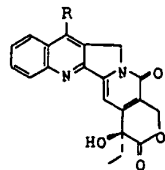
㉕ 代 理 人 弁理士 南孝夫

明 細 書

1. 発明の名称 抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

一般式



(式中 R は低級アルキル基であるか又は CH_2OR^1 又は CHO 又は COOH であり、 R^1 は H 又はアシル基である)

で表わされるカンプトテシン誘導体を有効成分とする抗腫瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は新規な抗腫瘍剤に関するものである。

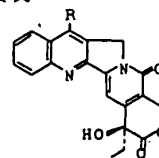
従来、癌の化学療法剤として、アルキル化剤、代謝拮抗剤、抗生物質等が用いられているが、一般に、化学療法剤は毒性及び副作用が強く、十分な治療効果をあげる化学療法剤はまだ得ら

れていないのが実情である。

カンプトテシンは落葉喬木喜樹 (*Camptotheca acuminata* Nyssaceae) 等から抽出・単離されたアルカロイドで、強力な核酸合成阻害作用を有し、その作用は迅速かつ可逆性を示すことが特徴で、既存の制癌剤と交叉耐性を示さないという独特な作用機作をもつ抗腫瘍性物質であり、マウス白血病 L1210、ラットウオーカー-256 肉腫など実験移植癌に対して、強力な制ガン効果を示すことが認められているが、毒性作用を有するために、医薬品としての有用性が自ら、制限されている現状にある。

本発明者らはかかるカンプトテシンについて、毒性及び副作用が弱く、かつ、抗腫瘍効果の強いカンプトテシン誘導体を得るべく種々のカンプトテシン誘導体を合成し、鋭意探索の結果、

一般式



(式中Rは低級アルキル基、又は CH_2OR^1 又は CHO 又は COOH であり、 R^1 はH又はアシル基である)

で表わされるカンプトテシン誘導体はその目的に適うものであることを見出した。本発明はかかる知見に基づくものである。

本発明の抗腫瘍剤においては、前記の一般式のカンプトテシン誘導体はそのまま、あるいはアルカリ金属又はアルカリ土金属の水酸化物又は塩を用いて塩に変換したものをを用いることができる。

本発明の抗腫瘍剤は、非経口投与により使用するのが良く、注射剤、点滴剤などの剤形で投与することができる。

本発明の抗腫瘍剤の製剤化は常法に従い行うことができる。

前掲一般式のカンプトテシン誘導体ならびにその塩類の投与量は、治療目的によつても異なるが、通常、成人1日当たり、 $2\text{mg} \sim 200\text{mg}/\text{kg}$ (体重)であり、特に好ましい量は、 $10 \sim 25\text{mg}/\text{kg}$ (体

- 3 -

前掲一般式の物質について抗腫瘍効果試験を行つた結果を表1に示す。

表 - 1

被検物質 (R)	総投与量 (mg/kg)	T/C %
CH_3	25	163
CH_2CH_3	25	>330
CH_2OH	25	130
CHO	25	>296
COOH	25	120
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$	25	>390
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_3$	25	178
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	25	>319

注：Rは前掲一般式における置換基を示す。

実験例 2

前掲一般式の物質について最少有効量と最大耐薬量を調べ、それから療法係数を算定した。

重)である。

次に本発明の抗腫瘍剤の抗腫瘍作用及び性について説明する。

(1) 抗腫瘍作用

胃癌類における抗腫瘍効果は、他の温血動物における抗腫瘍効果に対しても信頼できる結果をもたらすことは既に明らかにされているので本発明者らはマウスをモデルとして抗腫瘍効果を検討した。

実験例 1

実験方法

5×10^5 個のマウス白血病細胞 L1210 を BDF₁ マウス 1 群 10 匹に腹腔内移植し、移植後 1 日目から連続 5 日間被検物質を腹腔内に投与し、その延命効果を観察した。抗腫瘍効果は上記の実験条件で薬物投与群の平均生存日数(T)と薬物非投与群の平均生存日数(C)との比(T/C%)をもつて表わし、120%以上延命した場合を有効と判定した。

実験結果

表 2

被検物質 (R)	最少有効量 (mg/kg)	最大耐薬量 (mg/kg)	療法係数*
H (カンプトテシン)	5	25	5
CH_3	3	30	10
CH_2CH_3	2	25	12.5
CH_2OH	3	30	10
CHO	5	50	10
COOH	10	200	20
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$	2	25	12.5
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_3$	5	35	7
$\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	7	25	12.5

* 療法係数 = $\frac{\text{最大耐薬量}}{\text{最少有効量}}$

表2に示されるように、本発明に使用する前掲一般式のカンプトテシン誘導体は、カンプトテシンに比して、療法係数は約2倍～4倍に増大しており、カンプトテシンに比べて抗腫瘍効果の上昇あるいは毒性の低下が認められる。

実験例 3

- 5 -

- 6 -

体重20g前後のBDF₁雄マウスを1群20匹ずつ用い、^{前掲}一般式のカンプトテシン誘導体を投与し、急性毒性(LD₅₀)を調べた。

その結果を表3に示す。LD₅₀は被検物質投与後、一週間におけるマウスの生死の状況を観察し、その致死率からリッチフィールドウイロクソン法により算出した。

表 3

被検物質(R)	LD ₅₀ (mg/kg)
CH ₃	40
CH ₂ CH ₃	30
CH ₂ OH	40
CHO	65
COOH	250
CH ₂ OCOCH ₃	30
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₃	50
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	30

註1：投与部位は腹腔である。

2：Rは前掲一般式における置換基を示す。

- 7 -

ム層を硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、減圧で乾固する。残留物をシリカゲル(10g)カラムクロマトグラフィ(クロロホルム)により精製し、更にn-ヘキサン-クロロホルムより再結晶すると標記化合物127mg(収率17.5%)が黄色針晶として得られる。

製造例 2

7-エチルカンプトテシンの製造

カンプトテシン(1.00g, 2.87mmole)、硫酸第一鉄・七水和物(5.60g, 20.1mmole)及び1-プロパノール(6ml, 86.1mmole)を硫酸水溶液(水30ml、濃硫酸15ml)に溶解し、氷冷撹拌下に30%-過酸化水素水(2.1ml, 20.1mmole)を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の添加後室温で1時間撹拌を続ける。反応混合物を氷水(2L)で希釈し、クロロホルム(25L)で抽出する。このクロロホルム層を硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、減圧で乾固し、残留分をシリカゲル(15g)カラムクロマトグラフィ(クロロホルム)で分離精製し、

- 9 -

特開昭57-116015(3)

以下に本発明の抗腫瘍剤の有効成分である前掲の一般式の化合物の製造例を掲げる。

製造例 1

7-メチルカンプトテシンの製造

硫酸第一鉄・七水和物(4.17g, 15mmole)及びエタノール(3ml, 60mmole)を水(30ml)に溶解し、カンプトテシン(700mg, 2mmole)を懸濁させ、濃硫酸(15ml)を少量ずつ加えて溶解する。混合物に氷冷撹拌下、30%-過酸化水素水(1.63ml, 16mmole)を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の添加後、室温で6時間撹拌する。反応混合物に硫酸第一鉄・七水和物(2.0g, 7.2mmole)を加え、氷冷撹拌下、30%-過酸化水素水(1ml, 9.8mmole)を滴加し、室温で15時間撹拌を続ける。反応完了には、更に硫酸第一鉄・七水和物(4.2g, 15mmole)及び30%-過酸化水素水(1.5ml, 14.7mmole)を加え、室温で8時間撹拌を続ける。この反応混合物を氷水(25L)で希釈し、クロロホルム(3L)で抽出する。クロロホルム

- 8 -

更にn-ヘキサン-クロロホルムより再結晶する。標記化合物265mg(収率25.3%)が淡黄白色針晶として得られる。

製造例 3

7-ヒドロキシメチルカンプトテシンの製造

カンプトテシン(100mg, 0.287mmole)をメタノール(25ml)に懸濁し、氷冷下75%-硫酸(10ml)を加えて溶解し、煮沸還流撹拌下過硫酸アンモニウム(15g, 0.0657mmole)の水溶液(100ml)を16時間に亘つて滴加する。反応混合物を氷水(100ml)に注ぎ、ジオキサン-クロロホルム混合液(1:1, 500ml)で抽出し、さらにクロロホルム(100ml×3)で抽出する。これらの有機層を合せて無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、減圧で乾固し、残留した橙色の固体をメタノール(200ml)を加えて室温(50~60°C)30分間撹拌し不溶物を濾取し、減圧で乾燥し、ジメチルホルムアミド-ジオキサンより再結晶すると、標記化合物40mg(36.9%)が淡黄白色プリズム結晶m.p.

- 10 -

27.4~27.6°(dec.)として得られる。Rf値0.125
(5%メタノールクロロホルム)。

製造例 4

カンプトテシン-7-カルボン酸の製造

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチルカンプトテシン(200mg, 0.529mmole)をジオキサン(300ml)に溶解し、これにJones試薬(2.5ml, 約5.35mmole)を加え室温で2日間撹拌する。析出物を濾去し、母液を減圧で乾固し、残留物に水(15ml)を加えて不溶物を濾取し、水(50ml)で十分に洗う。析出物をジオキサンを用いて再結晶により精製すると、カンプトテシン-7-カルボン酸が淡黄色針状晶(m.p. >300°)として得られる。収量95mg(45.8%)。

製造例 5

7-アセトキシメチルカンプトテシンの製造

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチルカンプトテシン(200mg, 0.529mmole)をピリジン(40ml)に温時溶解し、放冷後無水

-11-

ホルム、n-ヘキサンより再結晶を行うと、210mg(48.4%)の淡黄白色針晶が得られる。m.p. 279~280°C

製造例 7

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチルカンプトテシン378mg(1mmole)を無水ジメチルホルムアミド80mlに温時溶解し、これに無水ピリジン1ml、無水n-酪酸1mlを加え60°Cにて4時間撹拌する。反応終了後エタノール10mlを加え、しばらく撹拌して過剰の無水物を分解した後、溶媒を減圧留去し、残留物をシリカゲル(10g)カラムクロマトグラフィー(クロロホルム)により精製し、クロロホルムn-ヘキサンより再結晶を行うと、160mg(35.7%)の7-ブチロキシメチルカンプトテシンの淡黄白色針晶が得られる。

m.p. 252~254°C

製造例 8

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチルカンプトテシン(200mg, 0.529mmole)を

-13-

特開昭57-116015(4)

トリフルオロ酢酸(300mg, 1.43mmole)を加え40°Cで8時間撹拌する。反応混合物は減圧で濃縮乾固し、残留物をシリカゲル(50g)カラムクロマトグラフィー(クロロホルム)により分離、精製すると、2-O-トリフルオロアセチル-7-トリフルオロアセトキシメチルカンプトテシンが淡黄白色の結晶として得られる。収量120mg(39.7%)。

製造例 6

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチルカンプトテシン378mg(1mmole)を無水ジメチルホルムアミド80mlに温時溶解し、放冷後、無水ピリジン1mlと無水プロピオン酸1mlを加え、室温にて24時間撹拌する。次いで、エタノール10mlを加え、しばらく撹拌し過剰の無水物を分解した後、溶媒を減圧留去し、残留物をシリカゲル(10g)カラムクロマトグラフィー(クロロホルム)により精製すると、420mg(96.8%)の7-プロピオニロキシメチルカンプトテシンの粗結晶が得られる。これをクロロ

-12-

H₂O(20ml)に懸濁し、これに濃硫酸(6ml)を少量ずつ加えて全体を溶液とし、30.5時間煮沸還流する。放冷後反応混合物を氷水(500ml)で希釈しCHCl₃(300ml×3)で抽出する。この際水層とCHCl₃層の両層に不溶な固体は濾取、乾燥する(7-ヒドロキシメチルカンプトテシン、回収)。CHCl₃層を合せてMgSO₄で乾燥し、濾過し、減圧で乾固する。その残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃)により精製すると39mg(収率29.7%)のカンプトテシン-7-アルデヒド[黄色プリズム晶m.p. 256~260°C(分解)]が得られる。

次に本発明の抗腫瘍剤の減量化例について記す。

例 1

カンプトテシン-7-カルボン酸を等モルのNaOHを含む0.03NのNaOH溶液に溶解した後濾過して得られる母液を濃縮乾燥して得られるカンプトテシン-7-カルボン酸のNa塩を1000mgを含有するようにバイアルに無菌的に封入、

-14-

密封した後冷蔵所に保存する。

使用前に生理的食塩水300mlを添加して症状に応じて1日10~300mlを静脈内への注射又は点滴により投与する。

例 2

7-エチルカンブトテシンを1500mgを含有する他は例1と同様の方法により1日10~300mlを静脈内への注射又は点滴により投与する。

特許出願人 株式会社ヤクルト本社

代理人 井理士 南 孝 夫

特開昭57-116015(5)

手 続 補 正 書

昭和56年5月19日

特許庁長官 島 田 春 樹 殿

1. 事件の表示

昭和56年特許願第1/50号

2. 発明の名称

抗 腫 瘍 剤

3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住 所 東京都港区東新橋1丁目9号

名 称 株式会社ヤクルト本社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区麹町3丁目2番地
相互第一ビル

電 話 (265) 9649

氏 名 (7270) 南 孝 夫



5. 補正命令の日付 自 発

6. 補正の対象 明 細 書

-15-

7. 補正の内容

- (1) 明細書6頁、表2中の最少有効量の欄の最下行の「7」の記載を「2」と訂正します。
- (2) 同/2頁/行の「トリフルオロ酢酸」の記載を「酢酸」と訂正します。
- (3) 同/2頁/行の「1.43mmole」の記載を「3.00mmole」と訂正します。
- (4) 同/2頁5~6行の「20-0-トリフルオロアセチル-7-トリフルオロアセトキシメチ」の記載を「7-アセトキシメチ」と訂正します。
- (5) 同/2頁8行の「(39.7%)」の記載を「(54.0%)」と訂正します。

以 上